

Министерство науки и образования Российской Федерации
Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования
«КАЗАНСКИЙ (ПРИВОЛЖСКИЙ) ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ И БИОЛОГИИ
КАФЕДРА ЗООЛОГИИ И ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ

Направление подготовки 06.03.01 Биология

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА
СТУДЕНТА IV КУРСА
ЗЫКОВА МАКСИМА ВИТАЛЬЕВИЧА

**ВОЗДЕЙСТВИЕ МЕЛКОДИСПЕРСНЫХ АСФАЛЬТЕНОВ НА
ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ *PARAMÉCIUM CAUDÁTUM* IN VIVO**

Работа завершена:

«01» июня, 2021 г.  (М.В. Зыков)

Работа допущена к защите:

Научный руководитель

Кандидат биологических наук, доцент

«01» июня 2021 г.  (Н.В. Шулаев)

Заведующий кафедрой

Кандидат биологических наук, доцент

«02» 06 2021 г.  (Р. М. Сабиров)

Казань - 2021

Реферат

Ключевые слова: *Paramecium caudatum*, асфальтены, нефтяные углеводороды, биодegradация, токсикология, битум.

Были проанализированы физ-хим свойства асфальтенов, особенности их строения и деградации, их влияние на различные живые организмы.

Рассмотрена основная характеристика *Paramecium caudatum*, влияние нефти на ее жизнедеятельность.

На основе этого были проведены исследования возможности проникновения и переноса инфузориями, как тест-объектами, асфальтены внутри клетки из загрязненной среды в чистую.

Были изучены и объединены различные методики, такие как флуоресцентная спектроскопия, измерение токсичность вещества, диспергирование УЗВ.

Была разработана методика горизонтальной миграции из загрязненной среды.

В результате исследования выявлено наличие асфальтенов в клетках тест-объектов, а так же установлена токсичность исследуемого вещества к инфузориям. Отмечен высокий уровень токсичности, а так же наличие биодegradации ВСМ углеводородов тест-объектами.

Выпускная квалификационная работа состоит из 56 страниц, включает в себя 11 рисунков и 15 таблиц. Список литературы включает в себя 40 источников, из которых 9 на иностранном языке.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1 Асфальтены.....	8
1.2 Нефть. Классификация нефти. Классификация нефтепродуктов по назначению.....	13
1.3 Битумы. Технология дорожного строительства.....	17
1.4 Попадание асфальтенов в окружающую среду.....	26
1.5 Влияние нефтяных углеводородов на живые организмы...29	
1.6 <i>Paramecium caudatum</i>	33
1.7 Влияние нефти на <i>Paramecium caudatum</i>	37
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	39
2.1 ИК-спектры.....	39
2.2 Диспергирование асфальтенов ультразвуком.....	41
2.3 Метод горизонтального переноса тест-объектов между двумя средами, в условиях дисперсного загрязнения толщи первичной исследуемой среды.....	42
2.4 Спектрометрия.....	45
2.5 Определение токсичности по выживаемости пресноводных инфузорий <i>Paramecium caudatum</i>	45
3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....	47
3.1 Результаты флуоресцентной спектрометрии.....	47
3.2 Определение токсичности по выживаемости пресноводных инфузорий <i>Paramecium caudatum</i>	49
4. ВЫВОД.....	51
ЛИТЕРАТУРА.....	53

Введение

Невозобновляемые энергоресурсы – неотъемлемая часть нашей повседневной жизни. Потребности в энергии растут с каждым годом на внушительные цифры. Все громче звучат инициативы по переходу на ресурсы возобновляемые, все чаще применяются ограничительные законы, как например, «Международная конвенция о гражданской ответственности за ущерб от загрязнения нефтью». Однако до сих пор переход полностью на экологичную энергетику является не реализуемым в связи с той разницей в объеме зеленой энергии, который возобновляемые ресурсы могут предложить в данный момент и спроса экономики на энергоресурсы в целом. За 2020 год Европейскому союзу удалось увеличить долю возобновляемой энергии до показателей, превышающих долю ископаемого топлива в соотношении 38% и 37% соответственно. Однако, даже не смотря на такой кажущийся прогресс, зеленой энергии все также не достаточно, а энергетика всего лишь один из секторов промышленности, где используются ископаемые энергоресурсы.

Одним из столпов невозобновляемых источников энергии являются углеводороды, в частности нефть и ее производные. Среднее потребление нефти за 2020 год по отчету ОПЕК составило 90,01 млн баррелей в сутки.

Нефтедобыча является крайне опасной отраслью промышленности для экологии. В отчете WWF [2] о разливах нефти в Арктике отмечено, что нефтяные разливы в море могут произойти на любом из этапов добычи, хранения или транспортировки нефти. Среди потенциальных источников разливов нефти можно назвать фонтанирование скважины во время подводной разведки или добычи, выбросы или утечки из подводных трубопроводов, утечки из резервуаров для хранения нефтепродуктов, располагающихся на суше, или утечки из трубопроводов в береговой зоне, а также в результате аварий с участием судов, транспортирующих нефть, или

разлива топлива с судов. Арктические условия, такие как движущиеся льды, низкие температуры, ограниченная видимость или полная темнота, ветры значительной скорости и экстремальные шторма, увеличивают вероятность аварий или ошибок, которые могут привести к разливу нефти. Даже не учитывая непредвиденные катастрофы, связанные с разливом нефти и нефтепродуктов, сама добыча – определяющий фактор для экологии прилегающих к скважинам территорий. Технология фрекинга позволяет проникновение нефтяных отходов в трещины в почвах, что ведет к таким последствиям как деградация почв, заражение подземных питьевых источников, загрязнение мирового океана.

Немировская [1] представляет вот такую статистику источников и объемов поступления нефти в морскую среду (таб.1).

Однако в данной работе выделен еще один источник попадания высокомолекулярных соединений нефти, образующихся из нефтепродуктов – дорожное строительство. В процессе укладки асфальтобетона используются разные марки битумов, которые, в свою очередь, содержат такие высокомолекулярные соединения как асфальтены. При деструкции дорожного покрытия, асфальтены оказываются в почвах и сточных водах. В этой работе мы рассматриваем несут ли данные процессы угрозу жизнедеятельности протистов.

Таб.1 Источники и объемы поступления нефти в водную среду

Источники поступления	Наиболее вероятный средний объем поступления, тыс.т/год	Доля среднего годового объема, %
Поступление нефти с морского дна (сипы)	600 (200-2000)	46
Добыча нефти в море:	38 (20-62)	5
Платформы (бурение, аварии, утечки)	0.9	
Атмосферные выбросы и выпадения	1.3	
Сброс пластовых вод	36	

Таб.1 Продолжение

Источники поступления	Наиболее вероятный средний объем поступления, тыс.т/год	Доля среднего годового объема, %
Транспортировка нефти: аварии танкеров штатные танкерные операции аварии на трубопроводах аварии на береговых терминалах атмосферные выбросы и выпадения	150(120-260) 100 36 12 4.9 0.4	12
Потребление нефти: береговые источники (речной сток и др.) аварии судов (не танкеров) штатные операции и сбросы с судов атмосферные выбросы и выпадения выбросы авиационного топлива	480 (130-6000) 140 7.1 270 52 7.5	37
Всего	1300(470-8300)	100

Цель и задачи

Цель: определить влияние мелкодисперсных асфальтенов с карбоксильной группой на жизнедеятельность *Paramecium caudatum* in vivo.

Задачи:

- освоить разведение инфузорий *Paramecium caudatum* в лабораторных условиях;
- освоить метод диспергирования асфальтенов путем ультразвукового воздействия;
- изучить метод асфальтного дорожного строительства, процесс деформации дорожного полотна и объем вымываемых из мест деформации асфальтенов;

- разработать методику горизонтального переноса тест-объектов между двумя средами, в условиях дисперсного загрязнения толщи первичной исследуемой среды;
- методами спектроскопии установить наличие или отсутствие асфальтенов и исследуемых пробах;
- освоить метод определения токсичности по выживаемости пресноводных инфузорий *Paramecium caudatum* ГОСТ Р 57166-2016;
- на основе полученных данных сделать вывод о степени опасности асфальтенов для протистов на примере выбранного модельного организма.

4. Вывод

Проведя спектрометрические и токсикологические исследования, сделаны следующие выводы:

- диспергированные в водной среде асфальтены свободно попадают внутрь клетки *Paramecium caudatum* и переносятся ими;
- в клетках инфузорий происходит биodeградация асфальтенов, как нативных, так и сульфированных. Биodeградация сульфированных асфальтенов проходит активнее, чем нативных;
- в исследуемых образцах было обнаружено присутствие не только высокомолекулярных, но и асфальтенов с низкой молекулярной массой, так же было обнаружен эффект тушения флуоресценции;
- как и в случае с нефтью в целом, наличие асфальтенов в среде в первые часы приводит к увеличению численности популяции *Paramecium caudatum*, однако, позже, ингибирует их размножение и оказывает патогенное воздействие на них, что приводит к сокращению численности, в среднем, на 70% за 96 часов.

Опасность нефтяных углеводородов давно известна, пагубное воздействие добычи и разливов нефти и нефтепродуктов на экосистему установлена и принимаются все меры для защиты окружающей среды от подобных эксцессов. Однако, как мы рассмотрели в представленной работе, не только добыча, транспортировка, хранение и переработка представляют опасность. Элементарные, повсеместно распространенные объекты, как автомобильные дороги, тоже могут представлять собой опасность. Деструкции дорожного полотна, механическая деградация битума, вымывание асфальтенов, содержащихся в нем, в почву и водные ресурсы: все это приводит к накоплению этих высокомолекулярных соединений в окружающей среде. Их низкая способность к деградации и седиментации, отличная агрегационная способность и, как показали результаты

исследования, фатальная токсичность - свойства, которые заставляют особенно активно изучать их влияние на жизнедеятельность живых организмов и искать способы нивелировать их патогенное воздействие на окружающую среду.